

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICA E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

LAÍZA SANTOS BIANO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO PADRONIZADO DOS FRUTOS DE  
CRANBERRY (*Vaccinium macrocarpon*)**

SÃO CRISTOVÃO  
2017

LAÍZA SANTOS BIANO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO PADRONIZADO DOS FRUTOS DE  
CRANBERRY (*Vaccinium macrocarpon*)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado ao curso de Farmácia da Universidade  
Federal de Sergipe como requisito parcial para a  
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Enilton Aparecido Carmago

SÃO CRISTOVÃO

2017



## RESUMO

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção das espécies reativas e a capacidade do organismo em eliminá-las que pode causar danos ao organismo, contribuindo para o desenvolvimento de várias condições patológicas. É relevante a busca por novas substâncias que possam neutralizar essas espécies. Neste contexto, inserem-se as plantas medicinais como fonte de moléculas bioativas. O fruto da planta *Vaccinium macrocarpon*, também conhecida como *cranberry*, tem uso popular para tratar várias condições, como as infecções do trato urinário. O presente estudo teve como objetivo determinar a atividade antioxidante, por métodos *in vitro* como 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenztiazolino-6-sulfônico) (ABTS), Óxido nítrico (NO), Ensaio de potencial reducional de ferro (FRAP), e pela inibição da peroxidação lipídica (TBARS) do extrato padronizado dos frutos de *V. macrocarpon* (EpVm). Os resultados foram analisados por ANOVA seguido pelo teste de Tukey e  $p < 0,05$  foi considerado significativo. A incubação com EpVm reduziu a formação do radical DPPH, a partir da concentração estoque de 3 µg/mL ( $p < 0,05$ ), ABTS, a partir da concentração de 300 µg/mL ( $p < 0,01$ ), e o NO, a partir da concentração de 1 µg/mL ( $p < 0,001$ ). Ademais, observa-se um aumento do potencial de redução do ferro a partir de 10 µg/mL de extrato ( $p < 0,01$ ) e diminuição da peroxidação lipídica a partir da concentração de 25 µg/mL ( $p < 0,01$ ). Estes resultados indicam que o EpVm apresenta propriedade antioxidante *in vitro*, podendo ser uma alternativa futura para tratamento de doenças que apresente o estresse oxidativo no seu curso.

**Palavras-chave:** Antioxidantes, Estresse oxidativo, Planta medicinal, *Vaccinium macrocarpon*.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>·OH</b>	Radical hidroxila
<b>ABTS</b>	<i>2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenztiazolino-6-sulfónico)</i>
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
<b>IC50</b>	Concentração inibitória máxima metade
<b>ERNs</b>	Espécies reativas de nitrogênio
<b>EROs</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>FRAP</b>	Ensaio de potencial reducional de ferro
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	Ânion superóxido
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroxinitrito
<b>SNP</b>	Nitroprussiato de sódio
<b>TBA</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TPTZ</b>	2,4,6-tripiridil-s-triazina
<b>EpVm</b>	<i>Vaccinium macrocarponin</i>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Atividade antioxidante do extrato padronizado da <i>Vaccinium macrocarponin</i> (EpVm) por eliminação de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) <i>in vitro</i> .....	17
Figura 2. Atividade antioxidante do extrato padronizado da <i>Vaccinium macrocarponin</i> (EpVm) por eliminação de radicais 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenztiazolino-6-sulfônico) (ABTS) <i>in vitro</i> .....	18
Figura 3. Atividade antioxidante do extrato padronizado da <i>Vaccinium macrocarponin</i> (EpVm) por eliminação de óxido nítrico (NO) <i>in vitro</i> .....	19
Figura 4. Atividade antioxidante do extrato padronizado da <i>Vaccinium macrocarponin</i> (EpVm) pelo potencial reducional <i>in vitro</i> .....	20
Figura 5. Atividade antioxidante do extrato padronizado da <i>Vaccinium macrocarponin</i> (EpVm) pela inibição da peroxidação lipídica.....	21

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA</b>	2
2.1. Espécies Reativas e Estresse oxidativo	2
2.2. Antioxidantes	3
2.3. Plantas medicinais	4
<b>3. OBJETIVO</b>	6
3.1. Objetivo geral	6
3.2. Objetivo específicos	6
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	6
4.1. Material vegetal	6
4.2. Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)	7
4.3. Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de radicais 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenztiazolino-6-sulfônico) (ABTS·)	7
4.4. Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de óxido nítrico (NO)	8
4.5. Capacidade antioxidante do EpVm pelo potencial reducional de ferro (FRAP)	9
4.6. Capacidade antioxidante do EpVm pela inibição da peroxidação lipídica	9
4.7. Análise estatística	10
<b>5. RESULTADOS</b>	10
<b>6. DISCUSSÃO</b>	15
<b>7. CONCLUSÃO</b>	18
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	18

## 1. Introdução

Evidência científica tem apontado para o fato de que o aumento das espécies reativas está relacionado com o desenvolvimento de diversas doenças, entre elas o câncer, doenças neurodegenerativas, diabetes e doenças cardiovasculares (CELLI, 2011; FARIA; PERSAUD, 2016; HALLIWEL, 2006, 2007). As espécies reativas são substâncias altamente reativas, que possuem um ou mais elétrons não pareados. Essas espécies reativas são produzidas durante o metabolismo normal do organismo, um grande número dessas espécies reativas, apresenta importantes funções fisiológicas, incluindo expressão gênica, sinalização celular e regulação da resposta imune. Em condições normais a produção de espécies reativas é contrabalanceada por antioxidantes que tem a função de manter essas espécies reativas dentro dos limites fisiológicos, ou impedindo assim a possível transformação em produtos tóxicos para as células. (EDEAS, 2011; GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2010).

Os sistemas antioxidantes são fundamentais para manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos, impedindo que os danos oxidativos se multipliquem e gerem danos sistêmicos irreparáveis (BARBOSA, 2010). O desequilíbrio por excesso na concentração de oxidantes ou redução dos antioxidantes em sistemas biológicos provoca o estresse oxidativo, levando a diversas alterações celulares (EDEAS, 2011).

Assim, compostos antioxidantes podem funcionar como agentes terapêuticos contra doenças em que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia (NETO et al., 2013; ALVES; DAVID, 2010). Neste contexto, as plantas medicinais representam uma alternativa importante, uma vez que estas são fontes de diversas substâncias químicas com ação antioxidante (BRANCO, 2010). Entre essas plantas destaca-se a *Vaccinium macrocarpon* Aiton cujo fruto são conhecidos como *cranberry*, pertencente à família Ericaceae, sendo usado pela população na forma de sucos em toda a América do Norte (ANHÊ et al., 2015).

Alguns estudos têm demonstrado que o uso de *cranberry* pode atenuar a inflamação em animais obesos (GLISAN et al., 2016) e inibir a adesão de bactérias como a *Escherichia coli*, associada às infecções do trato urinário recorrente (SINGH; GAUTAM; KAUR, 2016). Esses estudos reforçam a premissa de que a *V. macrocarpon* pode ser uma alternativa viável para o tratamento de condições



patológicas em humanos. Como é descrito que estes frutos possuem classes de compostos químicos como compostos fenólicos (SEN et al., 2013), que possuem atividade antioxidante, é plausível sugerir que esta atividade seja relevante para tratar condições que envolvam o estresse oxidativo. Sendo assim, o presente trabalho foi delineado para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de um extrato padronizado dos frutos de *V. macrocarpon*.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Espécies Reativas e Estresse oxidativo**

As espécies reativas são substâncias químicas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada. No organismo, elas são produzidas sucessivamente durante os processos metabólicos e atuam em várias reações bioquímicas como mediadores na doação e na transferência de elétrons, desempenhando funções relevantes ao metabolismo (ALVES; DAVID, 2010).

Neste contexto, pode-se destacar as espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) (YANG, et al. 2017). As EROs incluem tantos radicais, como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o radical hidroxila ( $\cdot OH$ ), bem como espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (VANCINI, et al. 2012). ERNs incluem o óxido nítrico ( $NO\cdot$ ), um radical livre que pode reagir com o  $O_2^{\cdot-}$  gerando o peróxinitrito ( $ONOO^-$ ), os quais são frequentemente gerados como subprodutos de reações biológicas (YANG, et al. 2017)

Durante o metabolismo normal essas espécies reativas são produzidas apresentando papéis importante em muitos processos fisiológicos, e o seu excesso, em condições normais, é equilibrado por mecanismo antioxidantes (BENTLEY et al., 2014). O sistema de defesa antioxidante tem como objetivo essencial manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos, impedindo que o dano oxidativo se multiplique e gere alterações irreparáveis (BARBOSA, 2010). No entanto, o desequilíbrio entre a produção das espécies reativas e as defesas antioxidantes

determina a instalação e o grau de estresse oxidativo (GARREL et al., 2010; GIORDANO et al., 2014).

Sabe-se que o estresse oxidativo é responsável por diversas alterações celulares (BENTLEY et al., 2014). Além disso, pesquisas têm mostrado uma relação entre as espécies reativas e o desenvolvimento de diversos processos fisiopatológicos como câncer, artrite, doenças cardiovasculares e processos degenerativos como as doenças de Parkinson e Alzheimer (PASHKOW, 2011).

Dessa forma, devido à importância dessa espécie na etiologia de muitas doenças é necessário a busca de novos compostos antioxidantes como agentes terapêuticos contra doenças em que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia (NETO et al., 2013).

## **2.2 Antioxidantes**

O termo antioxidante refere-se a qualquer substância capaz de estabilizar ou inativar os radicais livres, antes de causarem alterações oxidativas nas moléculas (ROWICKA et al., 2017). Os mecanismos de defesa antioxidante utilizados pelo organismo humano podem ser classificados como enzimáticos e não-enzimáticos (DEL RÉ, 2012).

Dentre os mecanismos de defesa enzimáticos os mais eficientes envolvem as enzimas glutathione peroxidase, catalase e superóxido dismutase que trabalham de forma fundamental para a manutenção da integridade celular, eliminando as espécies que iniciam a peroxidação, e agindo na quelatação de metais para impedir a geração das espécies reativas ou a decomposição de peróxidos (LEONEL et al., 2014).

Outra forma de defesa contra os agentes oxidantes é a defesa não-enzimática, que é composta por substâncias endógenas ou exógenas com propriedades antioxidantes, incluindo os antioxidantes naturais e sintéticos, destacando as classes de compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos). Dentre estas substâncias a classe dos flavonoides apresenta substâncias com elevada propriedade antioxidante, com destaque para as antocioninas (SEN et al., 2013). Estas são encontrados abundantemente em plantas sua função é proteger as plantas, flores e frutos contra a luz ultravioleta sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução,

além de contribuir na pigmentação e atuar como agente antipatogênico (FU et al., 2011).

O potencial antioxidante das antocionidinas está relacionado a sua estrutura química, em relação a presença de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio, são sempre encontradas na forma de glicosídeos são naturalmente hidrolisados por aquecimento em meio ácido, tendo o resultando em açúcares e agliconas (BICUDO et al., 2014). Estes compostos podem ter ação na estabilização das espécies reativas e, atuando algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto nas etapas iniciais quanto na proliferação do processo oxidativo (FU et al., 2011, VISIOLI et al., 2011).

### **2.3 Plantas medicinais**

As plantas medicinais são usadas há muito tempo pelos povos indígenas e é, portanto, utilizada, por outros grupos no tratamento de uma ampla gama de enfermidades, desempenhando um papel importante na saúde no mundo. Neste contexto, o estudo de plantas medicinais foi historicamente importante para a descoberta de novos tratamentos para as mais diversas condições clínicas e ainda representa uma fonte considerável de moléculas que tem potencial farmacológico (CALIXTO, 2000).

De acordo com a OMS, nos países em desenvolvimento, aproximadamente 70 a 90% da população faz uso da medicina tradicional. No Brasil, considerado o maior detentor da biodiversidade do planeta, estima-se que existam entre 10 a 20% do total de 1 milhão e meio de espécies já catalogadas no mundo (IBGE, 2016).

Diante disso, estima-se que no Brasil 82% da população utilizam produtos à base de plantas medicinais nos cuidados com a saúde. Esta prática é dada pelo conhecimento da medicina popular, cujo saber é transmitido entre as gerações (RODRIGUES; DE SIMONI, 2010).

A investigação etnobotânica pode auxiliar nos estudos envolvendo as plantas medicinais. A análise do valor de uso e o significado cultural das plantas para as comunidades que delas fazem proveito, fazem da etnobotânica e da etnofarmacologia poderosas ferramentas na busca por espécies vegetais que possam ser utilizadas na

fabricação de novos compostos de interesse médico e farmacêutico. (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006; DE FREITAS et al., 2017).

Essas plantas oferecem várias vantagens culturais, baixo custo e eficácia no tratamento de malefícios (ASADI et al. 2015). Existe a necessidade de reforçar a preocupação em relação à utilização incorreta de plantas medicinais pela população. É fundamental aumentar o apoio à pesquisa científica, para assim incrementar os conhecimentos relacionados à eficácia e segurança dessas plantas, e assim, poder fazer uso dessa terapia na cura e prevenção de doenças (DUTRA et al., 2016).

Entre as plantas com elevado potencial antioxidante destaca-se a *Vaccinium macrocarpon*, cujos frutos são popularmente conhecidos como *cranberry*, pertence à família Ericaceae e está disponível no mercado com várias nomenclaturas como Oxicoco, Orando Vermelho ou Mirtilo Vermelho, de folhas pequenas e flores de cor rosa escura. Seu fruto é uma baga inicialmente de cor branca, mas que se torna vermelho-escuro (MAZILI, et al., 2011).

Diversos estudos têm sido realizados a fim de caracterizar as atividades biológicas, dentre estas atividades destaca-se a inibição da proliferação de células cancerígenas em humanos (BONETTA et al., 2012.). A prevenção de infecções do trato urinário pela bactéria *Escherichia coli* (GUPTA et al., 2016) e úlceras gástricas (SILVA et al., 2015) e ainda a redução do risco de doenças cardiovasculares (ANHÊ et al., 2015).

É descrito que o *Cranberry* apresenta antocianinas, flavonóides, proantocianidinas, taninos condensados e ácidos fenólicos (CATÃO et al., 2015). Estudos relatam que esses componentes podem agir no sistema imune, que o mesmo contribuir no tratamento das infecções no trato urinário, isto é observado em decorrência à capacidade de antiaderência que *cranberry* apresenta contra as cepas uropatogênicas da *Escherichia Coli* na urina (BONETTA et al., 2012). Alguns estudos realizados com pacientes infectados por *Helicobacter pylori*, no qual foi avaliado a eficácia do fruto nessa condição patológica, ficou comprovado que o consumo regular do suco de *Cranberry* pode melhorar a condição de pessoas infectadas por *Helicobacter pylori* e com disposição ao câncer gástrico (BÁRTÍKOVÁ et al., 2014).

Assim, a necessidade na busca de novas terapias para tratamento de diversas doenças que apresentam o estresse oxidativo como parte de sua fisiopatologia, associada a potencialidade do uso de plantas medicinais e aliado ao efeito

antioxidante que compostos identificados no *cranberry* podem apresentar, motivaram a realização deste trabalho que visou avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato padronizado dos frutos da *Vaccinium macrocarpon*.

### **3. Objetivo**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Avaliar a capacidade antioxidante do extrato padronizado dos frutos de *Vaccinium macrocarpon* (EpVm).

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a capacidade antioxidante do EP Vm pela eliminação de radicais livres.
- Avaliar a capacidade antioxidante do EP Vm pelo potencial reducional de ferro.
- Avaliar a capacidade antioxidante do EP Vm pela inibição da peroxidação lipídica.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### ***4.1. Material vegetal***

O extrato hidroetanólico padronizado dos frutos de *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) foi adquirido comercialmente da Fagron BV (São Paulo – São Paulo, Brasil), lote 14083757D, com certificado de análise de controle de qualidade (ANEXO A) e gentilmente cedido pela Dose Certa Farmácia de Manipulação sob a responsabilidade

do Me. Farm. Leandro de Oliveira Porfírio. De acordo com o fabricante, este extrato obtido de frutos secos contém um mínimo de 25% (m/m) de antocianidinas.

#### **4.2 Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)**

Para a avaliação da capacidade antioxidante contra o radical DPPH· foi utilizada a metodologia descrita por Silva et al (2005) com algumas modificações. Em microplaca foram adicionados 50 µL de solução estoque do EpVm (1, 3, 10, 30 ou 100 µg/mL) a 150 µL da solução estoque de DPPH· (24 µg/mL), que foram incubadas a temperatura ambiente por 30 min com posterior a leitura de absorbância a 517 nm. A avaliação antioxidante foi realizada em triplicata e os valores de absorbância foram expressos como percentagem de inibição radical DPPH pela seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição de DPPH} = 100 - \{(\text{controle} - \text{teste}) / \text{controle}\} \times 100$$

A metade da concentração inibitória máxima (IC<sub>50</sub>) do EpVm foi determinada pela inibição de 50% do radical DPPH. Para este procedimento experimental foi utilizado como controle positivo o trolox (100 µg/mL). Os valores de percentual de inibição foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato ou controle positivo (sistema) (OLIVEIRA et al; 2017).

#### **4.3 Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de radicais 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenztiazolino-6-sulfônico) (ABTS·)**

Para a determinação da capacidade antioxidante contra o radical ABTS foi utilizada a metodologia descrita por Re et al. (1999). Neste protocolo, o radical ABTS foi inicialmente formado a partir da reação química de 5 mL de uma solução de ABTS (7 mmol/L) com 88 µL de uma solução de persulfato de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>; 2,45 mmol/L), a qual foi incubada à temperatura ambiente na ausência de luz durante 16 horas (OLIVEIRA et al., 2014). Decorrido este tempo, uma solução de ABTS foi diluída em etanol até obter uma solução com absorbância de 0,70 ± 0,05 a 734 nm. Em

microplacas, à temperatura ambiente e em escuro, 3 µL (10, 30, 100, 300 ou 1000 µg/mL) da solução estoque do EpVm foram adicionados a 300 µL do radical ABTS. O experimento foi realizado em triplicata e as leituras de absorbância foram realizadas no tempo de 15 minutos num espectrofotômetro (734 nm). Os resultados foram expressos como percentagem de inibição do radical ABTS pela seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição de ABTS} = 100 - \{(\text{controle} - \text{teste}) / \text{controle}\} \times 100$$

A IC<sub>50</sub> do EpVm foi determinada pela inibição de 50% do radical ABTS. O trolox (1000 µg/mL) foi utilizado como controle positivo. Os valores de percentual de inibição foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato ou controle positivo (sistema) (OLIVEIRA et al; 2017).

#### ***4.4 Capacidade antioxidante de EpVm por eliminação de óxido nítrico (NO)***

Nesta avaliação, o NO foi produzido a partir da decomposição espontânea de nitroprussiato de sódio (SNP, 20 mmol/L) em de tampão fosfato (50 mmol/L, pH 7,4). Uma vez gerado, o NO interage com o oxigênio para produzir íons nitrito, que foram medidos por meio da reação de Griess, de acordo com o método de Basu et al. (2006). Em uma microplaca foi adicionado uma mistura reacional contendo 50 µL da solução estoque do EpVm (1, 3, 10, 30 ou 100 µg/mL) e 50 µL SNP (20 mmol/L) em tampão fosfato (50 mmol/L, pH 7,4) e foi incubado a 37°C por 1 hora. Após, foram adicionados 100 µL de reagente de Griess.

A absorbância do cromóforo foi medida a 540 nm em espectrofotômetro e os resultados foram expressos como percentagem de inibição dos íons nitrito pela seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição de íons nitrito} = 100 - \{(\text{controle} - \text{teste}) / \text{controle}\} \times 100$$

A IC<sub>50</sub> do EpVm foi determinada pela inibição de 50% do radical dos íons nitritos. O trolox (100 µg/mL) foi utilizado como controle positivo. Os valores de percentual de inibição foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato ou controle positivo (sistema) (MAIA, 2010; BOMFIM et al, 2014; OLIVEIRA et al; 2017).

#### ***4.5 Capacidade antioxidante do EpVm pelo potencial reducional de ferro (FRAP)***

Para a determinação do FRAP do EpVm foi utilizada a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) com pequenas modificações. Em uma microplaca foram adicionados 9 µL da solução estoque de EpVm (1, 3, 10, 30 ou 100 µg/mL), 27 µL de água destilada e uma solução contendo tampão acetato (0,3 mol/L; pH 3,6), 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ; 10 mmol/L) e cloreto férrico (Fe<sub>3</sub>Cl; 20 mmol/L). A mistura reacional foi incubada a 37°C por 30 min. Após, a absorbância foi mensurada a 595 nm. Uma curva padrão de sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>) foi gerada e a equação linear foi usada para calcular o FRAP do extrato. O trolox (100 µg/mL) foi usado como controle positivo. Os valores foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato ou controle positivo (sistema). (OLIVEIRA et al; 2017).

#### ***4.6 Capacidade antioxidante do EpVm pela inibição da peroxidação lipídica***

O cérebro de rato foi removido e homogenato do tecido foi preparado em tampão fosfato (50 mmol/L, pH 7,0) a uma proporção de tecido para tampão de 1:9 (m/ v). O homogenato foi então centrifugado a 800xg, 4°C, durante 15 min e o sobrenadante foi utilizado para realização do teste. A peroxidação lipídica foi determinada de acordo com Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979) com modificações. Resumidamente, o homogenato de cérebro de rato (100 µL em tampão fosfato 50 mmol/L, pH 7,4) foi incubado com 50 µL de diferentes concentrações do EpVm (1, 10, 25, 50 ou 100 µg/mL) a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, foram adicionados 350 µL de ácido acético 20% (pH 3,5) e 600 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA, 0,36%) e foi incubado por 1 hora a 85°C. Em seguida, os tubos foram resfriados em gelo e centrifugados a 500xg durante 15 minutos. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm.

A atividade antioxidante foi expressa em percentual de inibição da peroxidação. A IC<sub>50</sub> do EpVm foi determinada pela proteção de 50% da lipoperoxidação. O Trolox



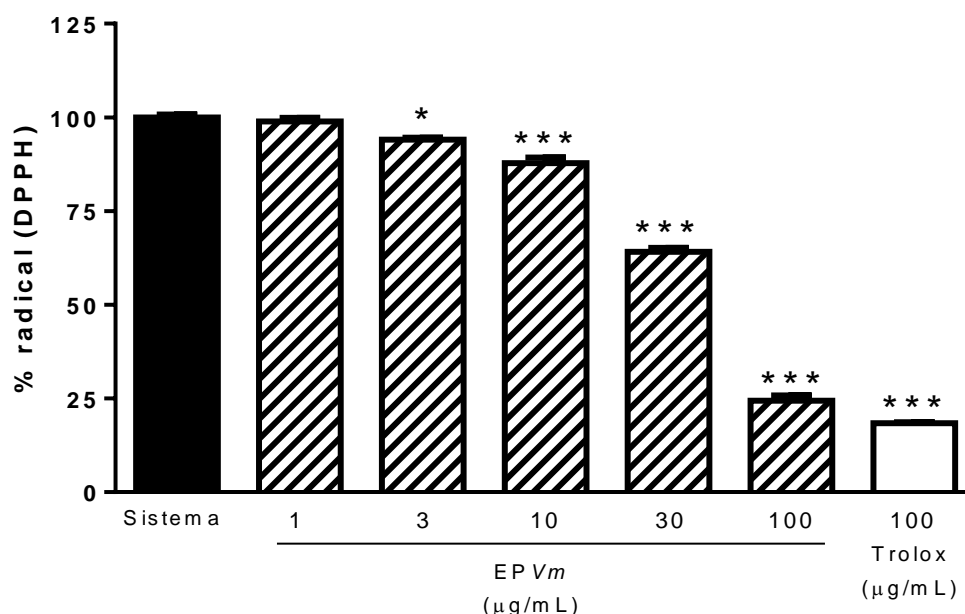
(100 µg/mL) foi utilizado como controle positivo. Os valores de percentual de inibição foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato ou controle positivo (sistema) (OLIVEIRA et al; 2017).

#### **4.7 Análise estatística**

Os ensaios foram realizados em triplicata, pelo menos 2 vezes e foram apresentados como média  $\pm$  E.P.M.. A avaliação estatística foi realizada usando análise de variância (ANOVA) para múltiplas comparações, seguida do pós-teste de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

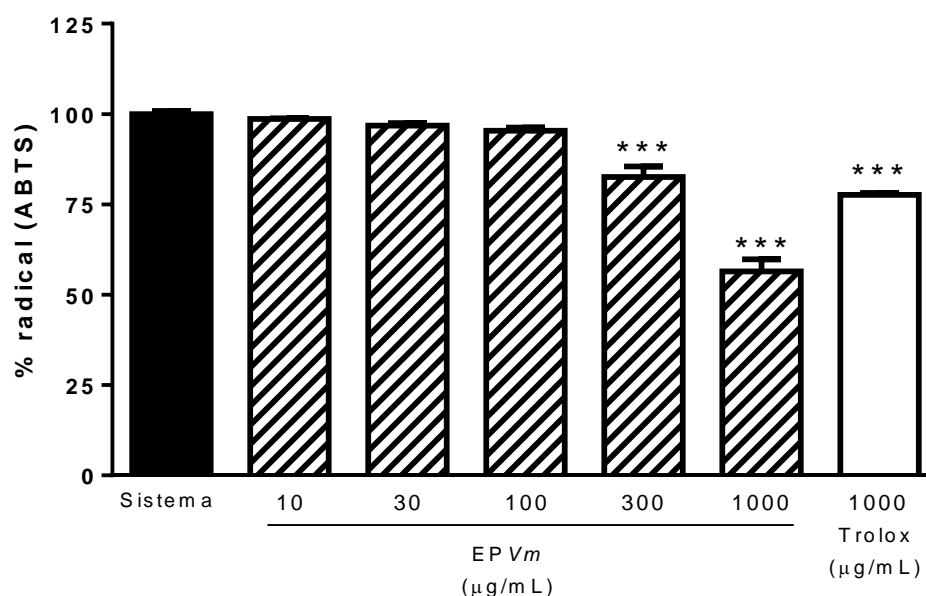
### **5. Resultados**

Os valores de percentual de inibição do radical DPPH pelo EpVm estão representados na figura 1 para as concentrações estoque de 1, 3, 10, 30 ou 100 µg/mL como  $1,9 \pm 1,1$ ,  $5,9 \pm 0,9$  ( $p < 0,05$ ),  $12,2 \pm 2,6$  ( $p < 0,01$ ),  $35,9 \pm 2,5$  ( $p < 0,001$ ) e  $75,6 \pm 0,8\%$  ( $p < 0,001$ ) de inibição quando comparado ao sistema (meio reacional sem adição de extrato), respectivamente. Este extrato diminuiu o radical DPPH, de forma dependente da concentração, a partir de 10 µg/mL. O trolox (100 µg/mL) também reduziu o radical DPPH ( $p < 0,001$ ), levando a inibição de  $81,6 \pm 0,5\%$ . O valor calculado para a IC<sub>50</sub> do EELs neste ensaio foi de 61,5 µg/mL.



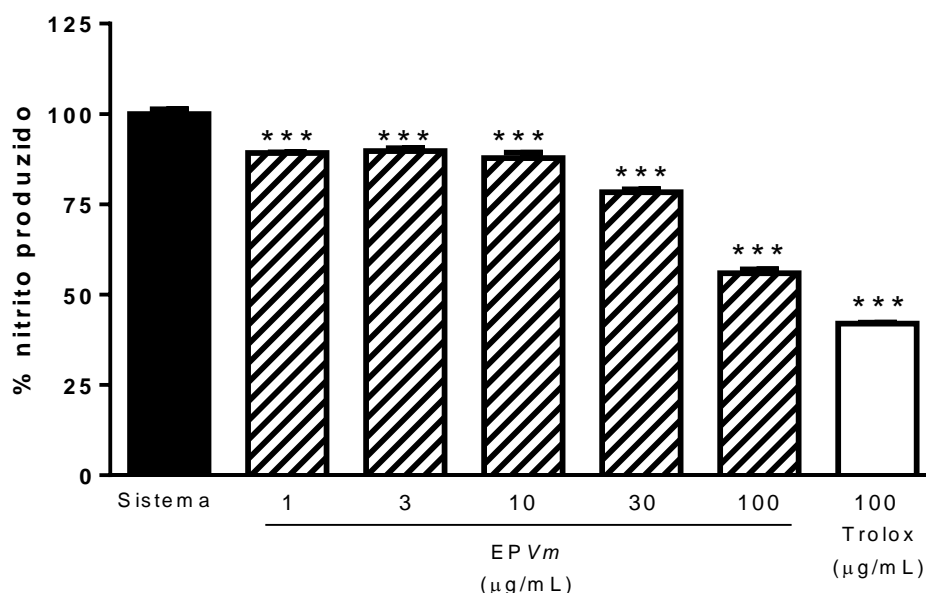
**Figura 1. Atividade antioxidante do extrato padronizado da *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) por eliminação do radical DPPH *in vitro*.** Diferentes concentrações do EpVm foram testadas no ensaio do radical DPPH. Os resultados representam a média  $\pm$  E.P.M dos valores de inibição *in vitro*; experimentos realizados em triplicata. Trolox foi usado como antioxidante padrão. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  ou \*\*\* $p < 0.001$  vs. respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante); ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Tukey.

Os valores de percentual de inibição no ensaio com o radical ABTS pelo EpVm estão mostrados na figura 2 para as concentrações estoque de 10, 30, 100, 300 e 1000  $\mu\text{g/mL}$ , com redução de  $1,3 \pm 0,3$ ,  $3,2 \pm 1,1$ ,  $4,6 \pm 1,4$ ,  $17,4 \pm 5,1$  ( $p < 0,001$ ), e  $43,6 \pm 5,9\%$  ( $p < 0,001$ ), respectivamente. Este extrato diminuiu o radical ABTS a partir de 300  $\mu\text{g/mL}$ , quando comparado ao sistema. O trolox (1000  $\mu\text{g/mL}$ ) também reduziu ( $p < 0,001$ ), o radical ABTS, com  $22,4 \pm 1,0\%$  de inibição. O valor da  $\text{IC}_{50}$  neste ensaio foi de 1132,4  $\mu\text{g/mL}$ .



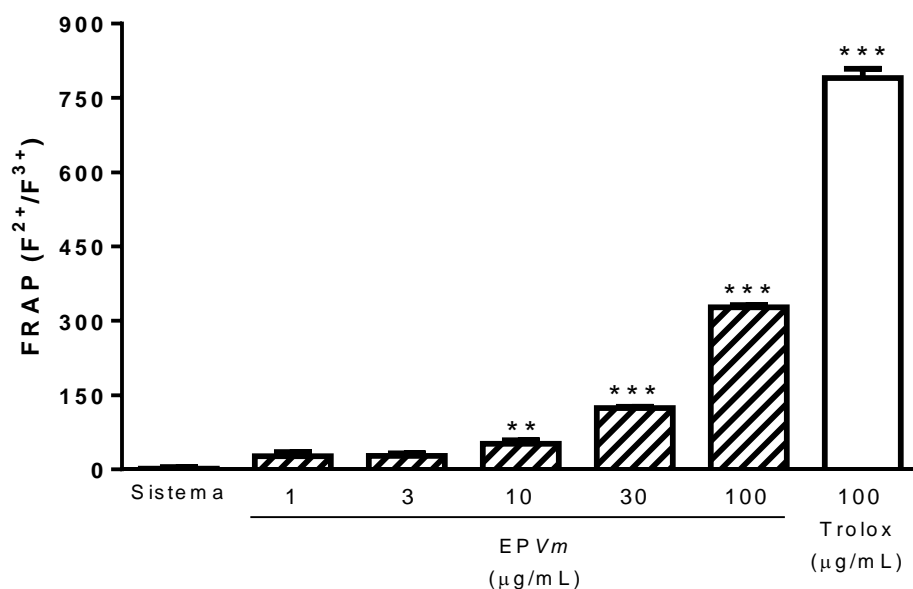
**Figura 2. Atividade antioxidante do extrato padronizado da *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) por eliminação do radical ABTS *in vitro*.** Diferentes concentrações do EpVm foram testadas no ensaio do radical ABTS. Os resultados representam a média  $\pm$  E.P.M dos valores de inibição *in vitro*; experimentos realizados em triplicata. Trolox foi usado como antioxidante padrão. \*\*\* $p < 0.001$  vs. respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante); ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Tukey.

Os valores de percentual de inibição do radical NO pelo EpVm estão representados na figura 3 para as concentrações estoque de 1, 3, 10, 30 ou 100  $\mu\text{g/mL}$  foram  $10,9 \pm 0,3$  ( $p > 0,001$ ),  $10,3 \pm 1,4$  ( $p < 0,001$ ),  $12,2 \pm 2,6$  ( $p < 0,001$ ),  $21,7 \pm 1,4$  ( $p < 0,001$ ),  $44,1 \pm 1,8$  ( $p > 0,001$ ), respectivamente. O trolox (100  $\mu\text{g/mL}$ ) também reduziu ( $p < 0,001$ ) a geração dos íons nitrito ( $58,0 \pm 0,5$  %). O valor da  $\text{IC}_{50}$  foi de 116,3  $\mu\text{g/mL}$ .



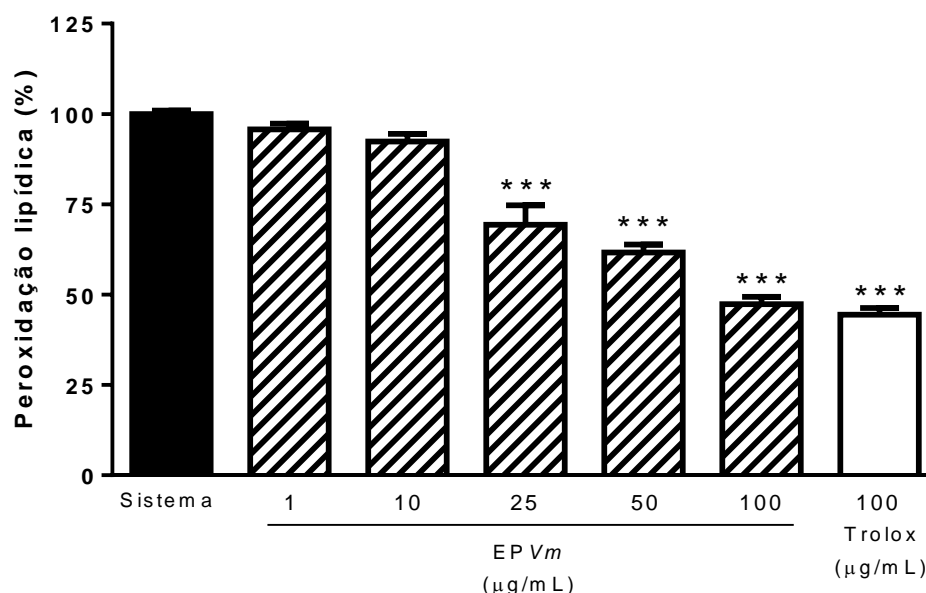
**Figura 3. Atividade antioxidante do extrato padronizado da *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) inibição do radical NO *in vitro*.** Diferentes concentrações do EpVm foram testadas no ensaio do radical nitrito. Os resultados representam a média  $\pm$  E.P.M dos valores de inibição *in vitro*; experimentos realizados em triplicata. Trolox foi usado como antioxidante padrão. \*\*\* $p < 0.001$  vs. respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante); ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Tukey.

Os resultados da capacidade antioxidante do EpVm pelo potencial reducional estão representados na figura 4. Pode-se observar um aumento no potencial reducional a partir da concentração de 10  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0,01$ ) quando comparado ao sistema, mostrando que o EpVm apresenta capacidade reducional do ferro. O Trolox (100  $\mu\text{g/mL}$ ) também apresentou potencial de redução elevado ( $p < 0,001$ ) quando comparado com o sistema.



**Figura 4. Atividade antioxidante do extrato padronizado da *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) pelo potencial reducional *in vitro*.** Diferentes concentrações do EpVm foram testadas potencial reducional do ferro (FRAP). Os resultados representam a média  $\pm$  E.P.M dos valores de inibição *in vitro*; experimentos realizados em triplicata. Trolox foi usado como antioxidante padrão. \*\* $p < 0.01$  ou \*\*\* $p < 0.001$  vs. respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante); ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Tukey.

A figura 5 apresenta a inibição da peroxidação lipídica em cérebro de ratos incubados com o EpVm em diferentes concentrações. Os valores de inibição da peroxidação lipídica para as concentrações de 1, 10, 25, 50 e 100  $\mu\text{g/mL}$  foram  $3,2 \pm 2,8$ ,  $7,7 \pm 3,7$ ,  $30,6 \pm 9,3$  ( $p < 0,001$ ),  $38,3 \pm 3,8$  ( $p < 0,001$ ), e  $52,7 \pm 3,6\%$  ( $p < 0,001$ ), respectivamente. O trolox (100  $\mu\text{g/mL}$ ) também apresentou uma inibição da peroxidação lipídica  $55,5 \pm 3,2 \%$ , ( $p < 0,001$ ). O valor de  $\text{IC}_{50}$  foi de 87,0  $\mu\text{g/mL}$ .



**Figura 5. Atividade antioxidante do extrato padronizado da *Vaccinium macrocarpon* (EpVm) pela inibição da peroxidação lipídica.** Diferentes concentrações do EpVm foram testadas contra a lipoperoxidação. Os resultados são representados por média  $\pm$  E.P.M dos valores do percentual de inibição para  $n=3$  experimentos realizados em duplicata. O trolox foi utilizado como antioxidante padrão; ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Tukey; \*\*\* $p<0.001$  vs. sistema (meio reacional sem o antioxidante).

## 6. Discussão

A busca de plantas medicinais com alta atividade antioxidante como agente terapêutico contra doenças em que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia direcionou o estudo com a *Vaccinium macrocarpon*, uma planta medicinal que é frequentemente utilizada para tratamento de desordens inflamatórias do trato urinário (Wang et al., 2012). Os resultados apresentados neste estudo demonstram a atividade antioxidante dos frutos de *Vaccinium macrocarpon* através da inibição do radical DPPH, ABTS e NO, pelo potencial reducional e inibição da peroxidação lipídica.

De acordo com o fornecedor, este extrato obtido de frutos secos contém um mínimo de 25% (m/m) de antocianidinas. É descrito na literatura a presença de

diversas classes de compostos bioativos em frutos de *Vaccinium macrocarpon*, dentre estas classes destaca-se a presença de compostos fenólicos, como antocianinas, antocianidinas, ácidos hidroxicinâmicos, hidroxibenzoicos e outros flavonoides, sendo as antocianidinas a principal classe de composto fenólico encontrada em extratos de frutos *V. macrocarpon* (SKROVANKOVA et al., 2015). Dentre os antioxidantes naturais, se encontram três classes de compostos com maior potencial antioxidante e são amplamente distribuídos na natureza: os compostos fenólicos, carotenóides e tocoferóis (LIN et al., 2004). Entre os compostos fenólicos destaca-se as antocianidinas que agem como antioxidantes na doação de hidrogênio ou elétrons, e também por possuir radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação (GOBBO. et al., 2007)

Os dados obtidos no presente estudo indicam que o EpVm apresenta atividade antioxidante *in vitro* contra o radical DPPH. Este resultado indica que o EPVm pode atuar como doador de íons  $H^+$ , os quais se ligam ao radical DPPH, reduzindo-o a hidrazila (CHONG et al., 2015). Este dado corrobora dados da literatura, os quais demonstram que concentrações baixas do extrato metanólico do fruto do *V. macrocarpon* reduz a quantidade de radical DPPH (NARDI et al., 2016; JESZKA-SKOWRON et al., 2017). Esta característica pode estar relacionada à alta concentração de compostos fenólicos presente nesta planta (ANHÊ et al., 2015), atribuindo, a maior parte desta atividade, às antocianidinas.

Além disso, os dados desse estudo relatam, pela primeira vez que o EpVm a atividade antioxidante *in vitro* contra o radical ABTS. Ademais, observa-se que a concentração de 300 µg/mL do EPVm reduziu o radical ABTS a valores iguais ao do controle positivo (trolox 1000 µg/mL) e que a concentração de 1000 µg/mL do EPVm apresentou redução inferior ao mesmo controle. Este resultado indica que o EPVm pode atuar como doador de elétrons para o radical ABTS (FLOEGEL et al., 2011; CHONG et al., 2015).

Encontram-se na literatura inúmeros trabalhos que utilizam os testes *in vitro* com DPPH· e ABTS+ para avaliar a capacidade antioxidante para várias categorias de amostras (GORINSTEIN et al., 2003; KATALINIC et al., 2004; MILIAUSKAS et al., 2004). Estes dois métodos são os mais utilizados para avaliar o potencial antioxidante de materiais biológicos por apresentarem excelente estabilidade e baixo custo em determinadas condições de ensaio (ARNAO, 2000). Embora estes sejam radicais

sintéticos, o mecanismo de transferência de elétrons ou hidrogênio pode ser associado à eliminação de radicais de maior relevância biológica.

Em adição, o *EpVm* apresentou inibição na produção de nitrito, um marcador da produção de NO. Embora o NO seja benéfico na defesa do organismo ao destruir microorganismo invasores, sua produção excessiva em alguns processos inflamatórios pode ser prejudicial, pois pode reagir com o ânion superóxido e levar a formação do peroxinitrito, um oxidante altamente reativo que produz lesão de DNA, nitração de tirosina e oxidação de cisteína, contribuindo com o estresse oxidativo (OAKLEY; THARAKAN, 2014).

Além disso, sabe-se que o estresse oxidativo promove a indução de fatores transcricionais como o fator nuclear (NF) - $\kappa$ B, que estimula a produção de produtos gênicos que codificam enzimas com capacidade de eliminar radicais livres por exemplo a catalase (AIKEN et al., 2011). A capacidade do extrato em reduzir o NO corrobora resultados que mostram que o *cranberry* apresenta atividade anti-inflamatória (HUANG et al., 2009).

O *EpVm* também apresentou capacidade redutora do ferro, que é baseado na produção do íon  $\text{Fe}^{2+}$  (forma ferrosa) a partir da redução do íon  $\text{Fe}^{3+}$  (forma férrica) presente no complexo 2,4,6- tripiridil-s-triazina (TPTZ). (THAIPONG, et al., 2006). Os íons ferro são muito ativos em reações de óxido-redução, o que os habilitam como potentes catalisadores das reações de geração de radicais livres, em condições de estresse oxidativo. A participação desses metais se dá, de maneira especial, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss. A primeira é referente à geração de radical  $\text{OH}^{\bullet}$ , por meio da reação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  com os íons em questão, em seguida, estes íons catalisam a reação entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o radical  $\text{O}_2^{\bullet}$ , a fim de gerar, da mesma forma, o radical  $\text{OH}^{\bullet}$ , que por sua vez reage rapidamente com moléculas como, que lipídeos, proteínas ou bases de DNA (SONEJA et al., 2005). Sendo assim, quanto maior a redução do ferro, menor será o potencial para ocasionar danos ao organismo.

Outra atividade importante do *EpVm* foi a diminuição da peroxidação lipídica. Este fato é interessante pois é conhecido que membranas e organelas celulares contém grande quantidade de lipídios poli-insaturados que podem ser alvos de reações de oxidação (PIZZIMENTI et al 2010). Pode-se atribuir esta ação às antocianinas que podem sequestrar de forma eficiente os peróxidos (HOGAN et al., 2010). Além disso, as antocianinas promovem a redução dos triglicerídeos, que são



os lipídios mais suscetíveis à oxidação por peróxidos, reduzindo o risco de aterosclerose e de outras doenças coronarianas (BOECHAT et al., 2014). Os dados encontrados neste trabalho concordam com trabalhos da literatura, o qual demonstra que o extrato aquoso do *Cranberry* apresentou inibição na produção das espécies reativas ao ácido tiobarturico *in vitro* (ABEYWICKRAMA et al., 2016). *In vivo*, observa-se que a administração durante 10 dias do extrato metanólico de *Cranberry* nas doses de 50 e 200 mg/kg reduziu a peroxidação lipídica no fígado e que a dose de 200 mg/kg reduziu a lipoperoxidação na pata após injeção de carragenina (NARDI et al., 2016).

Em sua totalidade, os resultados do presente estudo indicam um papel protetor do EPVm frente aos radicais DPPH, ABTS e NO, além de apresentar capacidade reducional e diminuir a peroxidação lipídica. Assim, pode ser sugerido que o EPVm pode ser uma alternativa futura para tratamento de doenças que apresente o estresse oxidativo como característica.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que o EPVm possui atividade antioxidante *in vitro* principalmente por neutralização de espécies reativas, pelo potencial reducional e pela inibição da peroxidação lipídica *in vitro*.

## 8. REFERÊNCIAS

ABEYWICKRAMA, Gihan et al. Phenolics of selected cranberry genotypes (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their antioxidant efficacy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 64, n. 49, p. 9342-9351, 2016.

AIKEN, Linda H. et al. The effects of nurse staffing and nurse education on patient deaths in hospitals with different nurse work environments. **Medical care**, v. 49, n. 12, p. 1047, 2011

ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino de; HANAZAKI, Natália. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. Suppl 0, p. 678-689, 2006

ALMEIDA, Maria Mozarina Beserra et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALVES, Clayton Queiroz. et al. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010

ANHÊ, Fernando F. et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice. **Gut**, v. 64, n. 6, p. 872-883, 2015.

ARNAO, Marino B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 11, p. 419-421, 2000

ASADI-SAMANI, Majid et al. Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 2, p. 146-157, 2015.

BARBOSA, Kiriague Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, , v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BÁRTÍKOVÁ, Hana et al. Effect of standardized cranberry extract on the activity and expression of selected biotransformation enzymes in rat liver and intestine. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 14948-14960, 2014.

BENTLEY, David J. et al. Acute and chronic effects of antioxidant supplementation on exercise performance. **Antioxidants in Sport Nutrition**, p. 141, 2014

BICUDO, Milene Oliveira Pereira. Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de Juçara (Euterpe edulis). 2014.

BOËCHAT, I. G. et al. Land-use impacts on fatty acid profiles of suspended particulate organic matter along a larger tropical river. **Science of the Total Environment**, v. 482, p. 62-70, 2014

BONETTA, Alberto; DI PIERRO, Francesco. Enteric-coated, highly standardized cranberry extract reduces risk of UTIs and urinary symptoms during radiotherapy for prostate carcinoma. **Cancer management and research**, v. 4, p. 281, 2012

BONFIM, Rangel R. et al. Isopropoxy-carvacrol, a derivative obtained from carvacrol, reduces acute inflammation and nociception in rodents. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 115, n. 3, p. 237-243, 2014

BRANCO, ALEXSANDRO; LEITE, TONNY CLEY CAMPOS. Análise das bulas de medicamentos à base de Ginkgo biloba L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, p. 83-87, 2010.

CALIXTO, Brasil JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CATÃO, Raíssa Mayer Ramalho et al. Atividade antibacteriana e efeito interativo in vitro de um produto a base de cranberry sobre Escherichia coli. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, 2015.

CELI, Pietro. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2011

CHEN, Jie; PATTON, Ron J. **Robust model-based fault diagnosis for dynamic systems**. Springer Science & Business Media, 2012.

CHONG, Yee Mun et al. Antioxidant efficacy of mangosteen (Garcinia mangostana Linn.) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage. **Food Bioscience**, v. 12, p. 18-25, 2015.

DE FREITAS JUNIOR, Luciano Mamede; DE ALMEIDA JR, Eduardo B. Medicinal plants for the treatment of obesity: ethnopharmacological approach and chemical and biological studies. **American journal of translational research**, v. 9, n. 5, p. 2050, 2017

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 389-399, 2012.

DUTRA, Rafael C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016..

EDEAS, Marvin. Strategies to target mitochondria and oxidative stress by antioxidants: key points and perspectives. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 11, p. 2771, 2011.

FARIA, Alyssa.; PERSAUD, S.J. Cardiac Oxidative Stress in Diabetes: Mechanisms and Therapeutic Potential. **Pharmacology & Therapeutics**, 2016.

FLOEGEL, Anna et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of food composition and analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FU, Li et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GARREL, Catherine; FOWLER, Paul A.; AL-GUBORY, Kaïs H. Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomes. **Journal of Endocrinology**, v. 205, n. 1, p. 107-116, 2010.

GIORDANO, Samantha; DARLEY-USMAR, Victor; ZHANG, Jianhua. Autophagy as an essential cellular antioxidant pathway in neurodegenerative disease. **Redox biology**, v. 2, p. 82-90, 2014

GLISAN, Shannon L. et al. Cranberry extract attenuates hepatic inflammation in high-fat-fed obese mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 37, p. 60-66, 2016.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GORINSTEIN, Shela et al. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 14, n. 3, p. 154-159, 2003.

GUPTA, Prachi et al. Atomic force microscopy-guided fractionation reveals the influence of cranberry phytochemicals on adhesion of Escherichia coli. **Food & function**, v. 7, n. 6, p. 2655-2666, 2016.

GUTTERIDGE, John M.C.; HALLIWELL, B. Antioxidants: molecules, medicines, and myths. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 393, n. 4, p. 561-564, 2010.

HALLIWELL, Barry. Oxidative stress and cancer: have we moved forward?. **Biochemical Journal**, v. 401, n. 1, p. 1-11, 2007.

HALLIWELL, Barry. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. **Journal of neurochemistry**, v. 97, n. 6, p. 1634-1658, 2006.

HOGAN, Shelly et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food chemistry**, v. 118, n. 2, p. 208-214, 2010.

HUANG, Da Wei et al. Extracting biological meaning from large gene lists with DAVID. **Current protocols in bioinformatics**, p. 13.11. 1-13.11. 13, 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapa de Biomas e de Vegetação; 2016. [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)

JESZKA-SKOWRON, Magdalena et al. Potential health benefits and quality of dried fruits: Goji fruits, cranberries and raisins. **Food chemistry**, v. 221, p. 228-236, 2017.

KATALINIĆ, Višnja et al. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. **Food chemistry**, v. 86, n. 4, p. 593-600, 2004.

LEONEL, Camila et al. Expression of glutathione, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase pi in canine mammary tumors. **BMC veterinary research**, v. 10, n. 1, p. 49, 2014.

LIN, Yueh-Shuang et al. Effects of helium-neon laser on levels of stress protein and arthritic histopathology in experimental osteoarthritis. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, v. 83, n. 10, p. 758-765, 2004.

MAIA, Robinson.M. et al. Evaluation of nitric oxide (NO) scavenging for the metanol extract of the alga Bryothamnion triquetrum (Gmelin) Howe. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 489-493, 2010.

MAZILI, Paulo Marcos Longuini.; CARVALHO JÚNIOR, Adilson Pimentel de; ALMEIDA, Fernando G. Infecção do trato urinário. **Rev Bras Med**, v. 68, n. 12, 2011.

MILIAUSKAS, Giedrius et al. Antioxidant activity of Potentilla fruticosa. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 15, p. 1997-2009, 2004.

NARDI, Geisson Marcos et al. Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. **Pharmacognosy research**, v. 8, n. Suppl 1, p. S42, 2016.

NETO, José Damasceno Nogueira et al. Antioxidant effects of nerolidol in mice hippocampus after open field test. **Neurochemical research**, v. 38, n. 9, p. 1861-1870, 2013.

OAKLEY, Ryan; THARAKAN, Binu. Vascular hyperpermeability and aging. **Aging and disease**, v. 5, n. 2, p. 114, 2014.

OLIVEIRA, Alan Santos et al. Atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e antioxidante do extrato etanólico de *Leonurus sibiricus* L.(Lamiaceae). 2017.

PASHKOW, Fredric J. Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention?. **International journal of inflammation**, v. 2011, 2011.

PIZZIMENTI, Stefania et al. The "two-faced" effects of reactive oxygen species and the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the hallmarks of cancer. **Cancers**, v. 2, n. 2, p. 338-363, 2010.

RODRIGUES, Angelo Giovani; DE SIMONI, Carmem. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 31, n. 255, p. 7-12, 2010.

ROWICKA, Grażyna et al. Total Oxidant and Antioxidant Status in Prepubertal Children with Obesity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

SEN, Saikat et al. Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of *Meyna spinosa* Roxb., an Indian medicinal plant. **Chinese journal of natural medicines**, v. 11, n. 2, p. 149-157, 2013.

SILVA, Marcos José Custodio Neto; DE OLIVEIRA PAIXÃO, Flávia Carvalho; PEREIRA, Adriana de Fátima Vasconcelos. INFLUÊNCIA DO USO DE CRANBERRY NA SAÚDE SISTÊMICA E BUCAL/INFLUENCE OF THE USE OF CRANBERRY IN SYSTEMIC AND ORAL HEALTH. **Revista de Pesquisa em Saúde**, v. 16, n. 1, 2015.

SKROVANKOVA, Sona et al. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 10, p. 24673-24706, 2015.

SINGH, Iqbal; GAUTAM, Lokesh Kumar; KAUR, Iqbal R. Effect of oral cranberry extract (standardized proanthocyanidin-A) in patients with recurrent UTI by pathogenic *E. coli*: a randomized placebo-controlled clinical research study. **International urology and nephrology**, v. 48, n. 9, p. 1379-1386, 2016.

SONEJA, Amit; DREWS, Magdalena; MALINSKI, Tadeusz. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. **Pharmacological Reports**, v. 57, p. 108, 2005.

THAIPONG, Kriengsak et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of food composition and analysis**, v. 19, n. 6, p. 669-675, 2006.

VANCINI, Rodrigo Luiz et al. Influência do exercício sobre a produção de radicais livres. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 10, n. 2, p. 47-58, 2012.

VISIOLI, Francesco. Nutritional support in the pharmacological treatment of metabolic syndrome. **European journal of pharmacology**, v. 668, p. S43-S49, 2011.

Wang, C.-H., Fang, C.-C., Chen, N.-C. et al. **Produtos contendo cranberry para prevenção de infecções do trato urinário em populações susceptíveis: uma revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados.** *Arch Intern Med* . 2012 ; 172 : 988-996

YANG, Xinyu et al. Oxidative Stress-Mediated Atherosclerosis: Mechanisms and Therapies. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 2017.